

## Adatok néhány *Streptomyces*, valamint mikroszkopikus gomba humuszbontó tevékenységéhez

SZEKI JÓZSEF és GULYÁS FERENC

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest

Az irodalmi adatokból (NIKITINSZKIJ [20], HOPPE-SEYLER [13], WAKSMAN [25], LYNCH és LYNCH [18] és mások) közismert, hogy a talaj humusz anyagai rendkívül ellenállóak a mikroorganizmusok mineralizációs tevékenységével szemben. VINOGRADSKIJ specifikus (autochton) mikroflóra létezését tétélezte fel a talajban, amelynek tagjai humusszal táplálkoznak. A későbbi vizsgálatok bebizonyították, hogy ilyen speciális mikroflóra nem létezik, azonban a humuszanyagok elbontásában részt vevő mikroorganizmusok hovatartozását illetően az irodalomban távolról sem találunk egyöntetű utalásokat. PONTOVICS [21] szerint egyes baktériumok nemcsak a nyílt szénláncú vegyületeket bontják le, de képesek megtámadni a gyűrűs szerkezetű vegyületeket is. MISUSZTIN és NIKITIN [19] arról adnak hírt, hogy az általuk vizsgált *Pseudomonas* sp. jóval több humuszt képes mineralizálni, mint a *Bac. mesentericus*, valamint egy *Penicillium* és *Actinomyces* törzs. DIDIER DE SAINT-AMAND [5] a baktériumok mellett a sugárgombák fontosságát hangsúlyozzák a humuszanyagok elbontásában. A sugárgombáknak a humuszanyagok elbontásában vitt szerepére mutat rá KONONOVA [15] is, ezzel szemben KÜSTER [16], valamint TEPPER [22] a proactinomycetáknak tulajdonítanak elsőrendű jelentőséget.

A humuszanyagok mineralizációjának ütemét rendkívül sok tényező befolyásolja. A vizsgálatok arra mutatnak rá, hogy laboratóriumi körülmények között a talajból kémiai úton nyert humuszpreparátumok elbontása nagymértékben függ a tápközeg kémiai összetételétől. WEBLEY és KORK [26], MISUSZTIN és NIKITIN [19], FJODOROV és ILJINA [9], VOLKOVA [24] és más szerzők arról közölnek adatokat, hogy a humusztartalmú tápközeghez a mikroorganizmusok számára könnyen értékesíthető kiegészítő szén és nitrogénforrásoknak a hozzáadása elősegíti a nehezen mineralizálódó humuszvegyületek leépítését is. Kiegészítő szén- és nitrogénforrások jelenlétében a humuszbontó szervezetek intenzív növekedésre, illetve szaporodásra képesek. Ilyen körülmények között, mint FAHRÁEUS [6, 7] FAHRÁEUS és LINDBERG [8] is rámutatnak, az aromás vegyületek lebontására képes szervezetek sokkal nagyobb mértékben szintetizálnak különböző fenoloxidáz fermenteket.

A fenoloxidázok szerepe a humuszsavak elbontásában teljes mértékben nem ismert. FREUDENBERG [10] megállapításai szerint, az aromás vegyületek, így a humuszanyagok szintézisét és lebontását ugyanaz az enzim, a lakkáz nevű polifenoloxidáz szabályozza. Korábban BAVENDAMM [2], DAVIDSON és munkatársai [4] arról közöltek adatokat, hogy az aromás vegyületek, így pl. a

lignin elbontása is korrelációban van a mineralizáló szervezetek polifenoloxidázokat szintetizáló képességével.

A fentiekkel ellentétben HENDERSON [11], HENDERSON és FARMER [12] rámutatnak arra, hogy az aromás vegyületek és polimerek elbontását egyedül a mineralizáló szervezetek lakkázaktivitása alapján nem lehet egyértelműen megmagyarázni. BURGESS [3] és HURST [14] lehetségesnek tartják a lakkáz közreműködését a humuszsavak mineralizációjának egyes szakaszaiban, de megállapításaik szerint a mikroszervezetek aromás karbonsavakat redukáló rendszere mutat legszorosabb korrelációt a humuszsavak mineralizációjával.

### Kísérleti rész

Munkánk során annak tanulmányozását tűztük magunk elé célul, hogy az általunk kísérletbe vont 20 mikroszkopikus talajgomba, valamint 22 sugárgombatorzs mennyiben képes leépíteni a talajból kémiai úton kinyert humuszpreparátumot. Vizsgáltuk továbbá, hogy a tápoldatba — kiegészítő szénforrás minőségében — bevitt glukóz és cellulóz, valamint kiegészítő nitrogénforrásként alkalmazott  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  — részben külön, részben pedig együttesen — milyen mértékben segítik elő a humusztartalmú tápoldat elszintelenedését a vizsgált mikroorganizmusok által. Vizsgálatokat végeztünk arra nézve is, hogy a tanulmányozott mikroszervezetek fenoloxidáz szintézise milyen összefüggést mutat a humuszpreparátum lebontásával. A kísérletbe vont mikroszkopikus gombák és sugárgombák alapvető többségét az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete egyik kísérleti telepének mészlepedékes csernozjom talajából tenyésztettük ki. Ugyanebből a talajból extraháltuk ki a táptalajhoz adott humuszanyagot is.

A kísérlethez Na-humátot használtunk fel, amelyet TYURIN [23] módszerével vontunk ki az említett talajból. A módszer azon alapszik, hogy a talajból a  $\text{CaCO}_3$ -ot sósavas kezeléssel, majd többszörös vizes mosással eltávolítjuk, a humuszsavakat 0,1 n töménységű NaOH-val kioldottuk, majd a szubsztrátumot többszörös szűréssel teljesen megszabadítottuk az ásványi kolloidoktól. A lúgos oldatból a humátot sósavval kicsapattuk és szűrés útján elkülönítettük a folyadéktól. A sötét színű csapadékot desztillált vízzel sokszorosan átmostuk. Az így megtisztított humuszkolloidokat infravörös lámpa alatt beszáritottuk.

A kísérletet a fent említett 20 mikroszkopikus gombával és 22 sugárgombával az alábbi hat kezelésben állítottuk be három ismételtsben: I. Humusz mint egyedüli szén és nitrogénforrás. II. Humusz + glukóz. III. Humusz + cellulóz. IV. Humusz +  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . V. Humusz + glukóz +  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . VI. Humusz + cellulóz +  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .

A talajból, az előbbiekben ismertetett módon, kinyert Na-humátból 0,2 g-ot mértünk be 500 ml 0,02 n NaOH oldatba, majd a teljes feloldódás után a sötét színű oldatot Seitz EK szűrőn át történő filtrálással sterilizáltuk. Azért választottuk ezt a csíráztatási módot, mivel az autoklávban történő sterilizálás esetén — feltételezhetően — a magas hőmérséklet-változásokat eredményez a humuszsav kémiai kötéseiben s ezen keresztül befolyásolja annak mineralizációját is. Táptalajként ásványi összetételű tápoldatot alkalmaztunk, amelyet az alábbi módon készítettünk el: desztillált vízben 0,1% mennyiségben  $\text{MgSO}_4$ -ot és KCl-t oldottunk fel. Az oldathoz a II-es és V-ös kezeléseknél glukózt, a IV-es és V-ös, valamint VI-os kezeléseknél pedig ammóniumnitrátot adtunk, az előbbi 1%-os, az utóbbit pedig 0,02%-os koncentrációban. A cellu-

lózos kezeléseknél (III-as és VI-os) a cellulózt közvetlenül a lombikokba vittük be. A kísérlethez 100 ml-es Erlenmeyer lombikokat alkalmaztunk, amelyekbe a megfelelő kezelések alapján készített oldatból 25 ml-t mértünk be, majd 0,5 atmoszféra nyomáson 40 percen át sterilizáltuk. Ugyancsak ezzel párhuzamosan Sørensen-féle pH 7-es kémhatású foszfátpuffert készítettünk, amelyet külön sterilizáltunk. Ezután steril körülmények között a 25 ml tápoldatot tartalmazó 100 ml-es Erlenmeyer lombikokba 20 ml *M/15*-ös foszfátpuffert adagoltunk be. Ez részben a táptalajkémhatásának stabilizálását szolgálta, de egyúttal a beoltásra kerülő mikroszervezetek foszforszükségletét is biztosította. Ezután minden egyes lombikba 5 ml Na-humát oldatot adagoltunk, amely az egész tápoldatot sötét színűre festette. Ezáltal az egyes Erlenmeyer lombikokban levő tápoldat 50 ml-re egészült ki, amely egyformán 0,01% Na-humátot, illetve az alkalmazott kezeléseknél megfelelően 0,5% glukózt vagy cellulózt és 0,1%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ -ot tartalmazott.

Az ily módon elkészített táptalajt beoltottuk a kísérletbe vont mikroszkopikus talajgombák, valamint sugárgombák egyhetes tenyészetének spóraszuszpenziójával és a táptalaj szintjét a lombikban megjelöltük abból a célból, hogy az inkubáció során elpárolgó vizet pótolni tudjuk. Az inkubáció 28 °C-os termosztátban 6 hónapig tartott.

Az inkubációs idő befejezése után a tenyészfolyadékot — amelyből az utolsó hónapok párolgási vesztesége következtében kb. 15–20 ml hiányzott — tisztára szűrtük és 50 ml-es mérőlombikba öntöttük. Az irodalmi adatok (AMBROZ [1], MISUSZTIN és NIKITIN [19]), de saját megfigyeléseink is azt mutatják, hogy egyes gombatorzsek a micéliumhártyájuk alsó részén adszorbeálják, míg mások a hifák belsejében raktározzák el a humát vegyületeket. Feltételezésünk szerint ez az adszorbeáció annak következtében jön létre, hogy a micéliumok közvetlen közelében az általuk kiválasztott organikus savak nem semlegesítődnek azonnal, s a közvetlen közelükben megsavanyítják a tápoldatot, amely az ott oldatban levő humuszkolloidok kicsapódását eredményezi, s ennek következtében a tápközeg színe különböző fokban megvilágosodik. Abból a célból, hogy az így létrejövő kísérleti hibaforrást kiküszöböljük, a micéliumhártyát dörzsesésében kvarchomok jelenlétében szétörzszöltük, a humátokat gyenge lúggal kioldottuk, s megsűrve a tenyészfolyadék szűrletét tartalmazó mérőlombikba töltöttük, majd azt desztillált vízzel 50 ml-re egészítettük ki.

A humusz mineralizációjának erősségére az elszintelenedés intenzitásából következtettünk, amelyet fotometrikus úton határoztunk meg, s a kapott értékeket ismert humuszmenntiségek felhasználásával készült standard görbe adataihoz viszonyítottuk, s így a lebontott humusz mennyiségét mg-okban fejeztük ki.

A gombák által termelt pigmentanyagok zavaró hatásának kiküszöbölése céljából humuszt nem tartalmazó táptalajon is inkubáltuk a torzseket. Megállapítottuk, hogy az általunk szintetizált pigmentanyagok nem fejtenek ki lényeges zavaró hatást, mivel egyik törzs esetében sem kaptunk mérhető értékeket.

A humusz bontás intenzitásának meghatározásával párhuzamosan kimutattuk a táptalajban visszamaradt kiegészítő szénforrás mennyiségét is. A fel nem használt glukózt BERTRAND módszerével határoztuk meg, míg a cellulóz meghatározását gravimetrikus úton végeztük. A kísérlet eredményeit az 1. és 2. táblázatban közöljük.

1. táblázat

A sugárgombák által felhasznált Na-humát és kiegészítő szénforrás mennyisége a 6-féle kezelésnél (mg/50 ml)

A vizsált Streptomyces törzsek megjelölése	(1) Kontroll		(2) NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>		(3) glukóz		(4) Glukóz+NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>		(5) Cellulóz		(6) Cellulóz+NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	
	Na-humát		Na-humát		Na-humát	glukóz	Na-humát	glukóz	Na-humát	cellulóz	Na-humát	cellulóz
Str. flavovirens (S <sub>2a</sub> )	—		—		0,15	5,3	3,67	250	0,68	22,5	0,50	129,9
Str. flavovirens (S <sub>9</sub> )	0,25		—		0,42	20,5	1,35	250	0,75	17,9	0,90	116,4
Str. flavovirens (S <sub>24</sub> )	—		—		0,95	26,5	3,10	250	1,77	30,2	1,67	148,4
Str. venezuelae (S <sub>29</sub> )	—		—		0,35	21,9	3,50	250	1,92	22,5	3,35	115,9
Str. phaeochromogenes (M <sub>1</sub> )	0,35		0,05		0,10	19,0	3,50	250	1,77	13,2	2,55	114,5
Str. roscolus (M <sub>c</sub> )	0,30		0,07		0,15	18,3	1,95	250	2,02	26,9	1,65	133,5
Str. oidiosporus (M <sub>20</sub> )	—		0,72		0,55	—	2,77	250	0,60	19,5	1,20	107,6
Str. antibioticus (M <sub>60</sub> )	0,37		—		0,42	19,2	3,07	250	1,07	20,5	3,35	135,2
Str. levoris (T <sub>2</sub> )	—		0,05		0,50	32,8	0,70	250	0,60	8,1	1,65	10,3
Str. sp. (S <sub>13</sub> )	0,72		0,25		0,80	78,7	2,62	250	1,40	27,6	1,90	122,6
Series Albosporus (1—9)	0,15		—		0,55	106,0	0,85	250	1,07	13,5	2,05	62,9
Series Albus-sterilis (1—20)	0,05		0,40		0,60	14,0	2,85	250	0,20	0,7	1,00	7,1
Series Albus (1—40)	0,25		0,05		1,27	15,7	0,50	250	0,90	7,6	0,97	4,8
Series Collins (1—51)	—		0,32		0,60	38,7	2,22	250	1,07	24,5	0,77	164,2
Series Chartreus (1—56)	—		—		0,70	13,7	4,25	250	1,25	12,5	2,05	53,8
Series Chartreus (1—59)	0,70		0,32		0,35	33,3	3,00	250	1,15	8,5	2,07	44,2
Series Albus-sterilis (1—30)	0,60		0,87		0,60	108,2	1,35	250	1,90	12,9	2,25	102,2
Series Chartreus (2—40)	—		1,00		1,27	73,7	3,50	250	3,32	19,1	3,25	106,7
Series Chartreus (2—51)	—		—		1,05	71,7	3,10	250	1,55	38,4	1,77	105,0
Series Venczelae (4—15)	0,15		—		0,60	28,0	1,07	250	1,10	28,4	2,07	97,0
Series Chartreus (4—36)	—		0,30		0,60	17,0	3,77	250	1,10	5,2	2,27	48,1
Series Violaceovirens (4—39)	0,35		0,10		0,45	75,0	2,02	250	1,15	26,4	1,50	70,4

A) Kiindulási mennyiségek:

humusz 5 mg/50 ml táptalaj  
glukóz 250 mg/50 ml táptalaj  
cellulóz 250 mg/50 ml táptalaj  
NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 10 mg/50 ml táptalaj

A mikroszkopikus gombák által felhasznált Na-humát és kiegészítő szénforrások mennyisége a 6. féle kezelésnél (mg/50 ml)

A vizsgált gombafajok megnevezése	(1) Kontroll Na-humát	(2) $\text{NH}_4\text{NO}_3$ Na-humát	(3) Glukóz		(4) Glukóz + $\text{NH}_4\text{NO}_3$		(5) Cellulóz		(6) cellulóz + $\text{NH}_4\text{NO}_3$	
			Na-humát	glukóz	Na-humát	glukóz	Na-humát	cellulóz	Na-humát	cellulóz
Aspergillus candidus (L-1)	—	—	—	18,2	2,82	250	—	40,9	1,15	88,6
Penicillium piscarium (L-2)	—	—	1,20	19,5	2,90	250	1,75	60,0	3,30	250
Penicillium nalgiovensis (Ksz-11)	—	—	1,30	128,7	3,57	250	—	171,0	2,62	250
Penicillium sp. P. funiculosum series (511)	—	—	—	—	1,30	250	1,00	105,3	—	250
Penicillium pallidum	—	—	—	—	1,60	250	2,15	70,1	2,60	250
Penicillium verruculosum (L-5)	—	—	1,85	139,2	—	250	3,00	209,1	—	109
Penicillium sp. P. purpurogenum series (Ksz-14)	—	—	—	—	—	250	2,77	136,2	—	250
Penicillium sp. (L-8)	—	—	1,47	150,0	—	250	1,80	151,7	—	250
Fusarium avenaceum (L-6)	—	—	1,52	147,0	—	250	1,02	40,3	—	250
var. herbarum	—	—	—	104,0	—	250	—	—	—	250
Fusarium aquaeductum var. dimerum (tn-22)	—	—	1,45	115,4	4,00	250	1,80	32,6	—	250
Hormodendrum sp. (L-11)	—	—	1,50	130,5	4,50	250	1,20	41,8	2,42	250
Fusarium sp. (902)	—	—	1,50	139,6	—	250	1,60	43,7	—	250
Fusarium solani var. argillaceum (L-12)	—	—	—	140,0	3,30	250	1,80	29,4	3,72	250
Fusarium nivale (L-4)	—	—	1,62	135,5	—	250	1,10	31,2	—	250
Verticillium candelabrum (L-13)	—	—	1,35	135,7	1,25	250	3,12	60,2	2,07	250
Nigrospora sp.	—	—	1,50	72,5	3,85	250	2,65	31,1	—	250
Steril mycelium (L-9)	—	—	1,55	140,0	—	250	1,37	57,1	—	250
a) Növényi gyökérdarabka	—	—	0,85	—	1,55	250	2,55	31,7	—	250
b) Talajszuszpenzió	—	—	4,05	—	4,20	250	2,40	14,1	3,52	119,8

Kiindulási mennyiségek:

humusz	5 mg/50 ml táptalaj
glukóz	250 mg/50 ml táptalaj
cellulóz	250 mg/50 ml táptalaj
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	10 mg/50 ml táptalaj

## 3. táblázat

## Sugárgombák fenoloxidáz reakciója mono- és difenollokkal szemben

(1) A törzs jelzése	(2) A színes gyűrű vastagsága mm-ben			
	Hidrokinon	p-Fenilén-diamin	Tirozin	p-Krezol
Str. flavovirens (S <sub>2a</sub> )	—	—	—	—
Str. flavovirens (S <sub>9</sub> )	+	+	4	2
Str. flavovirens (S <sub>24</sub> )	—	—	—	—
Str. venezuelae (S <sub>29</sub> )	+	+	—	—
Str. phaeochromogenes (M <sub>1</sub> )	—	—	—	—
Str. roseolus (M <sub>6</sub> )	—	—	—	—
Str. oidiosporus (M <sub>20</sub> )	—	—	—	—
Str. antibioticus (M <sub>60</sub> )	+	+	—	—
Str. levoris (T <sub>2</sub> )	—	—	—	—
Str. sp. (S <sub>16</sub> )	—	—	—	—
Series Albosporeus (1—9)	5	+	+	+
Series Albus-sterilis (1—20)	—	—	—	—
Series Albus (1—40)	—	—	—	—
Series Collinus (1—51)	5	2	—	—
Series Chartreusis (1—56)	8	2	—	—
Series Chartreusis (1—59)	8	3	—	—
Series Albus-sterilis (2—30)	+	+	—	—
Series Chartreusis (2—40)	11	3	—	—
Series Chartreusis (2—51)	10	2	—	—
Series Venezuelae (4—15)	10	3	—	—
Series Chartreusis (4—36)	9	2	—	—
Series Violaceorectus (4—39)	3	+	+	+

Munkánk második részében a kísérletbe vont sugárgombák és mikroszkopikus gombák fenoloxidáz szintézisét vizsgáltuk a KÜSTER [17] által ismerttetett lemezteszt módszerrel. A tanulmányozott mikroszervezeteket optimális kémhatású glukóz szénforrást és szerves nitrogénforrást tartalmazó agaros tápközegen előinkubáltuk. Az előinkubációt FAHRAEUS [6] által ismerttetett agaros tápközegen végeztük. A tápközeg kémhatását a sugárgombák inkubálása-kor 6,8 pH-ra, a mikroszkopikus gombák esetében pedig 5,5 pH-értékre állítottuk be. A Petri-csészében levő lemezkultúrákat 25 C°-os termosztátban 7 napon át inkubáltuk. Az inkubáció befejeztével a gombák és a sugárgombák telepeiből steril körülmények között 7 mm Ø agarlemez korongokat vágunk ki. Az agarlemez darabkákat a fenolanyagot tartalmazó agaros közegre helyeztük. (Egy-egy Petri-csészébe 4—4 agarlemez korong.)

A fenolos közeg összetétele: fenolokból és fenolszármazékokból = 1 g. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> = 0,5 g, MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O = 0,5 g, KCl = 0,5 g, agar = 25 g, deszt. víz = 1000 ml, pH = 4,5. A fenoloxidáz tesztet az alábbi fenolanyagokkal szemben végeztük: hidrokinon, p-fenilén-diamin, tirozin, p-krezol. A hidrokinon és a p-feniléndiamin, a lakkáz, a tirozin és a p-krezol pedig a tirozináz specifikus szubsztrátumai.

A lemezkorongok elhelyezése után a Petri-csészéket egy napra 24 C°-os termosztátba helyeztük a fenoloxidázok által kiváltott színreakció előhívása céljából, majd a lemezkorongok körül képződött színes gyűrű vastagságát lemértük. A vizsgálati adatokat a 3. és 4. táblázatban ismertetjük.

## 4. táblázat

## Mikroszkopikus gombák fenoloxidáz reakciója mono- és difenolokkal szemben

(1) A vizsgált organizmusok megnevezése	(2) A színes gyűű vastagsága mm-ben			
	Hidrokinon	p-Fenilén- diamin	Tirozin	p-Krezol
<i>Aspergillus candidus</i> (L-1)	—	—	—	—
<i>Penicillium piscarium</i> (L-2)	2	4	—	—
<i>Penicillium nalgiovensis</i> (Ksz-11)	4	4	—	—
<i>Penicillium</i> sp. <i>P. funiculolosum</i> series (511)	5	2	—	—
<i>Penicillium pallidum</i>	—	—	—	—
<i>Penicillium verruculosum</i> (L-5)	4	2	—	2
<i>Penicillium</i> sp. <i>P. purpurogenum</i> series (Ksz-14)	4	3	—	—
<i>Penicillium</i> sp. (L-8)	6	3	—	—
<i>Fusarium avenaceum</i> var. <i>herbarum</i> (L-6)	10	6	1	5
<i>Fusarium aquaeductum</i> var. <i>dimerum</i> (tn-22)	5	5	2	4
<i>Hormodendrum</i> sp. (L-11)	7	4	—	—
<i>Fusarium</i> sp. (602)	2	2	—	—
<i>Fusarium solani</i> var. <i>argillaceum</i> (L-12)	6	4	2	4
<i>Fusarium nivale</i> (L-4)	6	1	—	2
<i>Verticillium candelabrum</i> (L-13)	3	6	—	—
<i>Nigrospora</i> sp.	7	4	—	—
<i>Steril mycelium</i> (L-9)	4	2	—	—

## Eredmények megtárgyalása

A vizsgálatok adataiból kielemezhető, hogy lényeges különbségek vannak a kísérletbe vont mikroszkopikus gombák, valamint aktinomyceták humusz-bontó aktivitását tekintve. A mikroszkopikus gombák ugyanis csak abban az esetben képesek a talajból kémiai úton kinyert Na-humátot elbontani, amennyiben a tápoldat a humuszon kívül könnyebben megtámadható energiaforrást is tartalmaz. Azon kísérleti variáns esetében, ahol kizárólag a Na-humát képezi az egyedüli szénforrást, egyetlen vizsgált mikroszkopikus gomba sem képes növekedni. Ugyancsak nem volt megállapítható növekedés azon kezelésnél sem, amelyhez kiegészítő nitrogénforrásként ammóniumnitrátot adtunk. Ezzel szemben a tanulmányozott sugárgombák többsége kiegészítő szén- és nitrogénforrás nélkül is képes megtámadni a Na-humátot, sőt egyes törzsek, mint az S<sub>9</sub>-es, 1-59-es, 2-30-as, és 2-51-es ilyen körülmények között is jelentős mennyiségű Na-humátot képesek mineralizálni. A kiegészítő nitrogénforrás a sugárgombáknál sem fokozza a humusz mineralizációját, mivel a kapott bontási értékek nem térnek el lényegesen a csak Na-humátot tartalmazó kezelések adataitól.

Látható továbbá az adatokból, hogy kiegészítő szénforrásoknak a tápoldatba történő bevitelére következtében a vizsgált gombák jelentős része képes megtámadni és elbontani a Na-humátot. A szénforrások közül, amennyiben cellulózt adagoltunk be a táptalajba, a kísérletbe vont gombáknak 90%-a bontja a humátot, míg glukóz alkalmazásakor csupán 65%-a. Az aktinomyceták mind a glukóz, mind pedig a cellulóz kiegészítő szénforrások alkalmazásakor képesek a Na-humátot elbontani, azonban az egyes fajok, illetve törzsek humuszbontó aktivitása lényegesen különbözik egymástól. A kiegészítő nitrogénforrás glukózzal vagy cellulózzal történő együttes adagolás esetében sem hat jelentős mértékben a mikroszkopikus gombák humuszbontó aktivitására, mivel a Na-humát elszíntelenedési intenzitását ilyen körülmények között



sem befolyásolja számottevően. Ilyen esetben kevesebb gomba színteleníti el a tápoldatot, mint azon variánsnál, amely csupán kiegészítő szénforrást tartalmaz. Más a helyzet a sugárgombáknál, mivel ezeknél a kiegészítő szén- és nitrogénforrások együttes adagolása az esetek többségében jelentősen megemeli az elbontott Na-humát mennyiségét.

A fenti vizsgálataink megerősítik azokat az irodalmi adatokat, amelyek szerint bizonyos összefüggés mutatható ki a talaj nehezebben és könnyebben elbomló szerves anyagainak mineralizációja között. A kísérlet adataiból látható, hogy a gombák esetében csupán azon kezeléseknél figyeltünk meg humuszbontást, ahol kiegészítő szénforrás volt jelen, szemben a kiegészítő nitrogénforrással, amely nem váltott ki ilyen hatást. Ennek alapján feltételezzük, hogy az általunk vizsgált gombák a humuszt elsősorban nitrogénforrásként képesek hasznosítani, azaz annak nitrogéntartalmú komponensét bontják el, míg szénforrásként elsősorban a természetben előforduló, könnyebben felvehető szerves anyagok szolgálnak. Mivel pedig a talajba nagy mennyiségben kerülnek különböző növényi maradványok, amelyek kiegészítő szénforrásként felvevődhetnek, feltételezzük, hogy ezek mikrobiológiai transzformációja nemcsak fokozza a talaj humusz anyagait, de elősegítheti a már humifikálódott szerves anyagok mineralizációját is.

Az irodalmi adatokkal megegyezően a sugárgombák kiegészítő energiaforrás nélkül is aktív humuszbontóknak bizonyultak, s feltételezhetően fontos szerepük van a humusz anyagok elbontásánál.

A KÜSTER módszerével lefolytatott fenoloxidáz-teszt vizsgálatok adataiból kiemelezhető, hogy a kísérletbe vont mikroszervezetek közül 15 gombatörzs és 12 sugárgomba lakkáz típusú polifenoloxidázokat szintetizált glükóz szénforrást és szerves nitrogénforrást tartalmazó optimális kémhatású tápközegen. Tirozináz aktivitás csak néhány esetben volt megfigyelhető.

A Na-humátot tartalmazó tápközeg elszíntelenedése és a tanulmányozott mikroszervezetek lakkázaktivitása között korrelációs összefüggést nem tapasztaltunk. Ennek alapján arra következtethetünk, hogy a Na-humát lebontása nem a lakkáz közreműködésével megy végbe. A humusz mineralizációjában — a mikroszervezetek más típusú fermentjeinek, mint pl.: a peroxidáz és az aromás karbonsavakat redukáló enzim rendszer — lehet legfontosabb szerepe.

### Összefoglalás

1. Kiegészítő szénforrás nélkül a kísérletbe vont mikroszkopikus gombák nem képesek a tápoldatba vitt Na-humátot értékesíteni, ezzel szemben a vizsgált 22 sugárgombatörzs túlnyomó többsége kielégítően növekedik ilyen körülmények között és jelentős mennyiségű Na-humátot képes elbontani.

2. Kiegészítő szénforrások (cellulóz) jelenlétében a mikroszkopikus gombák jelentős része képes megtámadni a Na-humátot, de jelentősen megnövekedik a sugárgombák által elbontott humusz mennyisége is.

3. A kiegészítő szén- és nitrogénforrások együttes alkalmazása csak a sugárgombák egy részénél segíti elő a Na-humát mineralizációját, míg a gombák esetében nem, sőt csökkentik az elbontott humusz mennyiségét.

4. A fentiek alapján feltételezzük, hogy a vizsgált mikroorganizmusok jelentős része — elsősorban a mikroszkopikus gombák — a humuszvegyületeknek a nitrogéntartalmú oldalláncait képesek megtámadni, amennyiben könnyen értékesíthető szénforrást tartalmaz a szubsztrátum.



5. A Na-humát mineralizációja és a kísérletbe vont mikroszervezetek lakkázaktivitása között korrelációs összefüggés nem tapasztalható. Mindez arra mutat, hogy a humusz mineralizációja nem a lakkáz közreműködésével megy végbe.

### Irodalom

- [1] AMBROŽ, Z.: Laboratorni a ekološki sledovani mikrobialnih razgradov humi-  
sovih látek. Sbornik. CSAŽV. **29**. 1046—1049 1956.
- [2] BAVENDAMM, W.: Über das Vorkommen und den Nachweis von Oxidasen bei holz-  
zerstörenden Pilzen. Z. Pfl.Krankh. PflSchutz. **38**. 257—276. 1928.
- [3] BURGESS, N. A.: Enzymes associated with phenols. Proc. Plant Phenolics Group.  
Symposium Liverpool. 1962. Pergamon, London. 1963.
- [4] DAVIDSON, R. W., CAMPBELL, W. A. & BLAISDEL, D. J.: Differentiation of wood  
decaying fungi by their reactions on gallic acid or tannic acid medium. J. Agric.  
Res. **57**. 683—695. 1938.
- [5] DIDIER DE SAINT-AMAND, R.: Contribution à l'étude de la dégradation de l'humus  
par les micro-organismes du sol. VI<sup>e</sup> Congr. Int. Sci. Sol, Paris. Rapp. Vol. C. 425—  
429. 1956.
- [6] FAHRÆUS, G.: Formation of laccase by Polyporus versicolor in different culture  
media. Physiol. Plantarum. **5**. 284—291. 1952.
- [7] FAHRÆUS, G.: Further studies in the formation of laccase by Polyporus versi-  
color. Physiol. Plantarum. **7**. 704—712. 1954.
- [8] FAHRÆUS, G. & LINDBERG, G.: Influence of tyrosine and some other substances on  
the laccase formation in Polyporus species. Physiol. Plantarum. **6**. 150—158. 1953.
- [9] FJODOROV, M. V. & ILJINA, T. K.: Dosztupnoszt ugleroda i azota guminovoj kisz-  
loti mikroorganizmami. Izv. T. Sz. H. A. **1**. (38) 42—48. 1961.
- [10] FREUDENBERG, K.: Biosynthesis and constitution of lignin. Nature. **183**. 1152—  
1155. 1959.
- [11] HENDERSON, M. E. K.: Studies on the physiology of lignin decomposition by soil  
fungi. The Ecology of Soil Fungi. Ed. Parkinson. D. and Waid, J. S. Liverpool.  
University Press. 1960.
- [12] HENDERSON, M. E. K. & FARMER, W. C.: Utilization by soil fungi of p-hydroxy-  
benzaldehyde, ferulic acid, syringaldehyde, and vanillin. J. Gen. Microbiol. **12**.  
37—46. 1955.
- [13] HOPPE-SEYLER, F.: Über Huminsubstanzen, ihre Entstehung und ihre Eigenschaf-  
ten. Zbl. Physiol. Chem. **13**. 101—121. 1899.
- [14] HURST, H. M.: Aromatic acid-reducing systems in fungi. Proc. Plant Phenolics  
Group. Symposium Liverpool. 1962. Pergamon. London. 1963.
- [15] KONONOVA, M. M.: Problema pocsvennogo gumusza i szovremennije žadaci ego  
izucsenija. Izd. A. N. SSSR. Moszkva. 1952.
- [16] KÜSTER, E.: Untersuchungen über die Bildung und Zersetzung von Humusstof-  
fen durch Mikroorganismen. Arch. Mikrobiol. **15**. 1—12. 1950.
- [17] KÜSTER, E.: Mikrobielle Polyphenoloxidasen und Humusbildung. Zbl. Bakt. I.  
**160**. 207—213. 1953.
- [18] LYNCH, D. L. & LYNCH, C. C.: Resistance of Protein Lignin Complexes, Lignins and  
Humic Acids to Microbial Attack. Nature. **181**. 1478—1479. 1958.
- [19] MISUSZTIN, J. N. & NIKITIN, D. I.: Atakuemoszt guminovükh kiszlot pocsvennoj  
mikrofloraj. Mikrobiologija. **30**. 841—848. 1961.
- [20] NIKITINSZKIJ, J. J.: O razlozsenii guminovoj kiszlotü v szvjazi sz uszvoenijem ejo  
elementov vüszsümi rasztenijami. Izv. Moszkv. sz—h. in-ta. **3**. 45—102. 1902.
- [21] PONTOVICS, V. E.: Razlozsenije guminovükh vüszsesztv mikroorganizmami. Mikro-  
biologija. **8**. 696—707. 1938.
- [22] TEPPER, J. Z.: Ucsasztie mikroorganizmov v aerobnom razlozsenii jarovoj szolomü  
i obrazovanii pri etom gumuszoprodobnüh vüszsesztv. Pocsvovedenie (3) 175—  
182. 1949.
- [23] TYURIN, I. V.: K metodike analiza dlja szovremennogo izucsenija szosztava poc-  
svennogo peregnaja ili gumusza. Trudü Poesv. in-ta im. V. V. Dokucsajeva AN  
SSSR. **38**. 5—21. 1951.
- [24] VOLKOVA, L. P.: Razlozsenie gumuszovoj kiszlotü mikroorganizmami. Izv. A. N.  
SSSR. szer. biol. (1). 101—106. 1961.

- [25] WAKSMAN, S. A.: Gumusz. Proiszhovozhdenie, himicheszkij szosztav i znacsenie ego v prirode. Szel'hozgiz. Moszkva. 1937.  
 [26] WEBLEY, D. H. & KORK, P. C.: The Metabolism of Some Saturated Aliphatic Hydrocarbons, Alcohols and Fatty Acids by Proactinomyces opacus Jensen. Biochem. J. **51**. 371. 1952.

Érkezett: 1967. június 22.

### Data on the Humus Decomposing Activity of a Few Streptomyces and Microscopic Fungi

J. SZEGLI and F. GULYÁS

Research Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest

#### Summary

1. The examined microscopic fungi are not capable of decomposing the Na-humate in the nutrient medium without supplementary C-sources but in contrast to this the overwhelming majority of the investigated 22 Actinomyces grew satisfactorily in this medium without supplementary C-sources and could decompose a significant quantity of Na-humate.

2. In the presence of complementary C-sources (cellulose) a great number of microscopic fungi can attack the Na-humate, but the quantity of the humus, decomposed by the Actinomyces, significantly increased.

3. The simultaneous application of supplementary C- and N- sources promoted the mineralization of the Na-humate only in the case of certain Actinomyces, but it did not have the same effect in the case of microscopic fungi, on the contrary, it decreased the quantity of the decomposed humus.

4. On the basis of these it is supposed, that the major part of the investigated microorganisms, — principally the microscopic fungi — can attack the N-containing side chains of humus compounds, if the substratum contains easily available C-source.

5. There was no correlation between the Na-humate mineralization and the laccase activity of the investigated microorganisms. All these point to the fact, that the laccase does not take part in the mineralization of the humus.

*Table 1.* The quantity of the Na-humate and supplementary C-sources used by the Actinomyces in the six different treatments (mg/50 ml). (1) — (6) treatments. A) Initial quantities for 50 ml medium: humus 5 mg; glucose 250 mg; cellulose 250 mg;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  10 mg.

*Table 2.* The quantity of the Na-humate and supplementary C-sources used by the microscopic fungi in the six different treatments (mg/50 ml). Markings see Table 1. a) A small piece of plant root. b) Soil suspension.

*Table 3.* Phenol oxidase reaction of Actinomyces against mono- and diphenols. (1) The mark of the strain. (2) The thickness of the coloured ring in mm.

*Table 4.* The phenol oxidase reaction of microscopic fungi against mono- and diphenols. (1) Designation of the investigated organisms. (2) The thickness of the coloured ring in mm.

### Datos en relación con la actividad de descomposición de algunos streptomyces y hongos microscópicos

J. SZEGLI y F. GULYÁS

Instituto de Investigación Pedológica y Agroquímica de la Academia de Ciencias de Hungría, Budapest

#### Resumen

Sin una fuente carbonica complementaria los hongos microscópicos no son capaces de utilizar el humato de Na puestos en la solución de cultivo, contrario a los 22 especies de hongos radiales los cuales en la mayoría crecen favorablemente en tales condiciones, y son capaces de descomponer notable cantidad de humato de Na.

En presencia de las fuentes del carbono complementario (celulosa) gran parte de los hongos microscópicos son capaces de atacar el humato de Na, pero simultáneamente crece la cantidad descompuesta de humus por los hongos radiales.

La utilización combinada de las fuentes complementarias de carbono y nitrógeno influye en la mineralización del humato de Na solamente en una parte de los hongos radiales, mientras que en el caso de los hongos no se encuentra influencia ninguna, lo que es más, se baja la cantidad descompuesta de humus.

En base de lo mencionado arriba suponemos, que notable parte de los microorganismos investigados, principalmente los hongos microscópicos, son capaces de atacar las cadenas laterales de nitrógeno de los compuestos de carbono, fácilmente utilizable.

No se nota correlación entre la actividad de lacasa de los microorganismos investigados y la mineralización del humato de Na. Todo esto indica que la mineralización del humus no se lleva a cabo mediante cooperación de lacasa.

**Tabla 1.** El humato de Na utilizado por los hongos radiales y la cantidad de la fuente carbonica suplementaria en los 6 tipos de tratamiento (mg/50 ml). Tratamientos (1) — (6). *A)* Cantidades de sustancias básicas para 50 ml de solución de cultivo: 5 mg de humus, 250 mg de glucosa, 250 mg de celulosa y 10 mg de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .

**Tabla 2.** El humato de Na utilizado por los hongos microscópicos y la cantidad de las fuentes suplementarias de carbono en los 6 tipos de tratamientos (mg/50 ml). Vea las indicaciones en la 1<sup>a</sup> tabla. *a)* fragmento de raíz de una planta. *b)* Suspensión de suelo.

**Tabla 3.** Reacción fenoloxidasica de los hongos radiales contra mono- y difenoles. (1) Indicación de especie. (2) Grueso del anillo de color en mm.

**Tabla 4.** Reacción fenoloxidasica de los hongos microscópicos contra mono- y difenoles. (1) Denominación de los organismos investigados. (2) Grueso del anillo de color en mm

## Данные к гумусоразлагающей активности некоторых актиномицетов и микроскопических грибов

И. СЕГИ и Ф. ГУЯШ

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии А. Н. Венгрии, Будапешт

### Резюме

1. Микроскопические грибы, используемые в опытах, без дополнительного источника углерода не в состоянии усваивать гумат натрия, внесенный в питательный раствор, в противовес этому, из 22-х исследованных штаммов лучистых грибов большинство удовлетворительно развивалось в этих условиях и могло разлагать довольно значительное количество гуматов натрия.

2. В присутствии дополнительного источника углерода (целлюлоза) значительная часть микроскопических грибов может затрагивать и гуматы натрия, но тогда увеличивается и количество гумуса, разложенного лучистыми грибами.

3. Совместное применение дополнительных источников углерода и азота способствует минерализации гуматов натрия только для одной части лучистых грибов, в тоже время, в случае грибов не повышает, а наоборот, снижает количество разложившегося гумуса.

4. На основании вышесказанного можно предположить, что значительная часть изученных микроорганизмов, в первую очередь микроскопические грибы, могут затрагивать боковые цепи азотосодержащих гумусовых соединений, поскольку субстрат содержит легкорезализуемый источник углерода.

5. Между минерализацией гумата натрия и лакказактивностью корреляционной связи не наблюдается. Все это указывает на то, что минерализация гумуса проходит без участия лакказы.

**Табл. 1.** Гумат натрия, использованный лучистыми грибами и количество дополнительного источника углерода в 6-ти различных вариантах (mg/50 мл). (1) — (6) Варианты. *A)* Исходные количества на 50 мл питательной среды: гумус 5 мг, глюкозы 250 мг, целлюлозы 250 мг,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  10 мг.

**Табл. 2.** Гумат натрия, использованный лучистыми грибами и количество дополнительного источника углерода в 6-ти различных вариантах. (mg/50 мл). Обозначения смотри в таблице № 1. *a)* Кусочек растительного корешка. *b)* Почвенная суспензия.

**Табл. 3.** Фенолоксидазная реакция лучистых грибов на моно- и дифенолы. (1) Обозначение штамма. (2) Толщина цветного кольца в мм.

**Табл. 4.** Фенолоксидазная реакция микроскопических грибов на моно- и дифенолы. (1) Название изученных микроорганизмов. (2) Толщина цветного кольца в мм.